



ラット脳組織核酸含有量の年令による差異について

著者	矢嶋 聡
号	470
発行年	1967
URL	http://hdl.handle.net/10097/18368

氏 名 (本 籍) や じま あきら
矢 嶋 聡

学 位 の 種 類 医 学 博 士

学 位 記 番 号 医 博 第 4 7 0 号

学位授与年月日 昭 和 4 2 年 3 月 2 4 日

学位授与の要件 学位規則第5条第1項該当

研究科専門課程 東北大学大学院医学研究科
(博士課程) 外科学専攻

学 位 論 文 題 目 The Nucleic Acid Content of the Brain
Tissue of Rats as Influenced by Age
(ラット脳組織核酸含有量の年令による差異
について)

(主 査)

論文審査委員 教授 九 嶋 勝 司 教授 菊 地 吾 郎

教授 荒 川 雅 男

教授 立 木 蔚

論 文 内 容 要 旨

老化の本態については、現在多くの報告があるにもかかわらず、不明な点が非常に多いが、女性の初老期を、現象として性周期の消失との関連に於て捉えることについては、それなりの根拠があると思われる。この時期について、その原発部位をめぐつて、今迄いろいろの面から数々の報告がなされている。そして現在、女性の老化に関しては、下垂体をも含め、広く間脳視床下部にその原発部位があるだろうとの一応の見解を得ている。こうした見解にたつて、私は、ラットの脳組織を大脳、小脳、間脳及び脳幹に分けて、それぞれの部位の核酸の変化を調べて、成熟群と老化群との比較を行つた。実験に使用した動物はWistar系の雌性ラットであり、生後約150日、体重130~150gのもので性周期を有する所謂成熟ラット群、及び生後650~750日、体重約250~300gの性周期を消失した所謂老化ラットの2群を使用した。動物は、断頭後たゞちに脳を取り出し、血液などを除き、ドライアイスで凍結した。凍結後、脳部位を切り出し、5匹を1群として使用した。核酸の抽出はSchneider法により行ひ、DNAについてはdiphenylamine反応により、RNAはorcinol反応に従つて、それぞれ定量した。又核酸塩基組成は、Schmidt-Thannhauserの方法に従つて、DNA及びRNAを分離抽出した後、DNAについては、Wyattの記述に従つて、過塩素酸で分解し、RNAについては、Smith-Markhamに従つて塩酸で分解した。こうして得た4塩基組成を、イソプロパノール・塩酸系のペーパークロマトグラフィーで1次元に展開した。又間脳部分についてだけ行つた核酸のメタル化アルブミンカラムクロマトグラフィー（以下MAK）による分画については主としてMandell-Hersheyの方法により、食塩磷酸緩衝液で連続的に濃度勾配をあげて分画した。成熟ラット脳のDNA含有量は、大脳、間脳及び脳幹部分では、相互間に於て著差がなく、それぞれ、8.65, 8.15, 8.18 $\mu\text{g-P}/100\text{mg}$ 湿重量であつた。小脳のDNA含有量は、これらの部位の値よりも、はるかに高く27.9 $\mu\text{g-P}/100\text{mg}$ 湿重量であつた。DNAの老化による減少率は、大脳、小脳、間脳及び脳幹についてそれぞれ、1.16, 0, 0.13, 1.74%であり、DNA含有量は老化によつて変化しないことを知つた。一方成熟ラット脳組織のRNA含有量は、大脳、小脳、間脳及び脳幹部分でそれぞれ、13.65, 13.55, 13.97 10.42 $\mu\text{g-P}/100\text{mg}$ 湿重量であり、老化脳組織のRNAの値は、それぞれ11.40, 13.38, 8.81, 7.88 $\mu\text{g-P}/100\text{mg}$ 湿重量であつた。即ち、老化によるRNAの減少率は、大脳、小脳、間脳及び脳幹に於て、それぞれ16.48, 1.24, 36.94, 24.38%となり、小脳を除いた他の脳の部位では、老化によりRNAが有意に減少することを認めたが、

特に老化によつて間脳RNAが著明に減少することがわかつた。成熟及び老化ラット両群の大脳小脳、間脳及び脳幹のDNA塩基組成を測定した結果は、グアニン、20.0~21.6、アデニン、29.1~30.8、シトシン、19.1~20.5、チミン、28.8~30.8 Molar %の範囲の値であつた。即ち部位別にも、また成熟と老化との比較に於ても全く差異を認めることが出来なかつた。一方RNA塩基組成について、DNAと同様部位別に、成熟と老化との比較を行つた結果では、成熟ラット脳の4部位ともに、グアニンの値が32.8~33.8 Molar %であつたのに対して、老化ラットでは、31.4~31.9 Molar %の範囲であり、老化により、グアニンの値が低下する傾向が認められた。これに反し、ウラシルの値は、成熟に於ては、16.2~17.9 Molar %の範囲の値であり、老化群では、17.5~18.2 Molar %であつた。即ち4部位共通して、老化によりウラシルの値の上昇する傾向を認めた。従つてG+C/A+Uは成熟に比して老化ラット脳に於ては、4部位ともに低下することを知つた。間脳核酸のMAKによる分画については、フェノール法により抽出した全核酸(RNA, DNAの混合液)を、先に述べたMandell-Hersheyの方法に従つて用意したカラムに入れて、磷酸緩衝液を用いて、食塩濃度0.4 Mから始めて、連続的に濃度勾配をあげて試料を溶出してその分画を得た。それぞれのフラクションは、2 mlずつ集め、260 m μ の吸光度で、S-RNA, DNA, リボゾームRNA (r_1 -RNA 及び r_2 -RNA)を定量した。分画の同定は、グラフのそれぞれのピークに当る食塩濃度を測定することによつて行つた。成熟ラットでは、S-RNA, DNA, r_1 -RNA及び r_2 -RNAの分画のピークの食塩濃度は、それぞれ0.43, 0.64, 0.76, 0.86 Mであつた。溶出し終つた時の回収率は、95.8%である。S-RNA/DNA, r_1 -RNA/DNA及び r_2 -RNA/DNAの値は、それぞれ3.21, 4.49, 4.35であつた。これに対して、老化ラット間脳核酸MAKでは、S-RNA/DNA, r_1 -RNA/DNA, 及び r_2 -RNA/DNAに相当するグラフのピークの食塩濃度は、それぞれ0.43, 0.63, 0.78, 0.84 Mであり、回収率は96.6%であつた。成熟間脳に於けると同様S-RNA/DNA, r_1 -RNA/DNA 及び r_2 -RNA/DNAの値を求めると、それぞれ2.65, 3.08, 2.13であつた。DNAの値が成熟と老化群との間で差がないので、RNA/DNA比をそれぞれの分画について、成熟と老化について比較すると、成熟間脳に比らべて、老化間脳ではS-RNA/DNA, r_1 -RNA/DNA 及び r_2 -RNA/DNA 3者共に低値を示している。特に高分子リボゾームに含まれるRNA、即ち r_2 -RNAのDNAに対する値(r_2 -RNA/DNA)の老化による減少が著明であることがわかつた。以上総括すると、(1)核酸含有量の老化による減少率は、間脳RNAに於て最も大であり(約37%)、次いで脳幹、大脳の順序であつた。(2)RNA塩基組成は、成熟と老化との比較に於て、脳の4部位共に老化によつてG+C/A+Uの値のみの減少傾向を認めた。DNAの塩基組成は、成熟、老化群両者間で差を認めることが出来なかつた。(3)間脳核酸のMAKによる分画では、S-RNA/DNA, r_1 -RNA/DNAの値も老化によつて減少するが、 r_2 -RNA/DNAの値の老化による減少は、前二者に比して著明であることがわかつた。これらのことは、少くとも老化間脳では、成熟に比らべて、蛋白合成機能が著しく低下していることを示唆するものであると考える。

審 査 結 果 の 要 旨

著者の属する教室では女性性腺系の老化は間脳に初発することを実験的に証明している。著者は間脳の老化所見としてその部の核酸に変化が起るものではないかと言う想定の下に以下の実験を行つてゐる。

① Wistar 系雌ラットの130～150gのものを成熟群、生後650～750日の250～300gのもので性周期のなくなつたものを老化群とし、各々につき脳各部の核酸を測定した。

② DNA はSchneider法で抽出し、diphenylamin反応により測定したが、成熟群間脳で $8.15 \mu\text{g-P}/100 \text{mg}$ 湿重量であり、これは大脳、脳幹との間に差異がなく、ただ小脳はこの3倍以上の高値を示した。ただし、これらの値を老化群と比較しても有意差がなかつた。

③ RNA をorcinol 反応で定量したが、成熟間脳で $13.55 \mu\text{g-P}/100 \text{mg}$ 湿重量となり大脳、小脳と差なく、脳幹で僅かに低値であつた。これを老化群と比較するに小脳を除く、間脳、大脳、脳幹で減少が認められ、とくに間脳においてRNA 減少率が最も顕著であつた。

④ Schmidt-Thannhauser 法でDNA , RNA を分離抽出し、DNA はWyattの過塩素酸法で、RNA はSmith-Markhamの塩酸法で分解して得た4塩基組成をイソプロパノール・塩酸系のペーパークロマトグラフィーで一次元に展開するに、DNA では脳の部位が異なつても、成熟と老化の間にも差異を認めなかつた。RNA の塩基組成は脳各部位とも老化によりグアニン値が低下し、ウラシル値が上昇する傾向を認めた。

⑤ 間脳の核酸をメチル化アルブミンカラムクロマトグラフィーで分画し、それについてフェノール法により抽出した全核酸をMandell-Mershey 法により、食塩燐酸緩衝液で連続的に濃度勾配をあげて分画するに、 r_2 -RNA/DNA は老化によつて著明に減少し、老化間脳では蛋白合成機能が著しく低下していることが分つた。

以上の如く、性腺系老化が初発する間脳ではRNA の減少ことに蛋白合成機能の低下していることを確認したものであり、今後性腺系老化阻止にも一つの手がかりを与えるものであり充分学位授与に値するものと判定した。